

PCR Uros mut 248

1- PCR mix

2,50 μ l 10X buffer(Q BIOgene ; 1,5 mM MgCl₂)
 0,25 μ l dNTP (20 mM total)
 0,15 μ l primer uros for (200 ng/ μ l)
 0,15 μ l primer uros rev (200 ng/ μ l)
 0,20 μ l Taq polymerase (Q BIOgene ; 5U/ μ l)
 19,75 μ l distilled water

2- PCR reaction :

23,0 μ l mix
 2,0 μ l DNA (200ng/ μ l)

3- PCR program :

5 min	94°C	
30 sec	94°C	
30 sec	60 °C	35 cycles
1 min	72°C	
5 min	72°C	

4- Primers:

- Primer uros for 5' CTTATGCTAGTCTGGTTGTG 3'
 - Primer uros rev 5' GCTCAGGTCAGAAGTCACTC 3'

5- Amplification:

wild-type allele : 900 bp
 KO allele : 1100 bp